

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY**

(19) **PL** (11) **235716**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **423054**

(22) Data zgłoszenia: **04.10.2017**

(51) Int. Cl.

C07C 49/76 (2006.01)

C12P 7/26 (2006.01)

C12R 1/01 (2006.01)

(54)

**4-Etylo-4'-metylo- α,β -dihydrochalkon i sposób otrzymywania
4-etylo-4'-metylo- α,β -dihydrochalkonu**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

08.04.2019 BUP 08/19

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

05.10.2020 WUP 15/20

(73) Uprawniony z patentu:

**UNIWERSYTET PRZYRODNICZY
WE WROCŁAWIU, Wrocław, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:

**JOANNA KOZŁOWSKA, Rawicz, PL
MIROSŁAW ANIOŁ, Wrocław, PL**

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Anna Kasperowicz

PL 235716 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest 4-etylo-4'-metylo- α,β -dihydrochalkon o wzorze 2 przedstawiony na rysunku.

Przedmiotem wynalazku jest również sposób otrzymywania 4-etylo-4'-metylo- α,β -dihydrochalkonu.

Znany jest sposób redukcji α,β -nienasyconego wiązania pochodnych *trans*-chalkonu na drodze mikrobiologicznej (Stompor M. et al., *Appl Microbiol Biotechnol.* 2016, 100, 8371–8384) oraz chemicznej (Shang J. et al., *Eur. J. Org. Chem.* 2012, 2809–2815).

W dostępnej literaturze nie znaleziono doniesień na temat 4-etylo-4'-metylo- α,β -dihydrochalkonu oraz sposobu jego otrzymywania.

Istota wynalazku polega na tym, że reakcję redukcji 4-etylo-4'-metylochalkonu prowadzi się za pomocą systemu enzymatycznego szczepu bakterii z rodzaju *Rhodococcus* albo *Gordonia* przy czym substrat dodaje się po upływie od 40 do 56 godzin a reakcję prowadzi się w temperaturze od 20 do 32°C. Mieszaninę transformacyjną ekstrahuje się rozpuszczalnikiem organicznym niemieszającym się z wodą, ekstrakt osusza się za pomocą środka suszącego. Następnie rozpuszczalnik odparowuje się a surowy ekstrakt oczyszcza się na kolumnie chromatograficznej.

Korzystnie jest gdy szczepem jest *Rhodococcus* sp. DSM 364.

Korzystnie także jest gdy szczepem jest *Gordonia* sp. DSM 44456.

Korzystnie również jest, gdy substrat dodaje się po upływie 48 godzin.

Korzystnie jest także, gdy proces redukcji prowadzi się wodną kulturą, przy ciągłym mieszaniu, w temperaturze od 20 do 32°C.

Dodatkowo korzystnie jest, gdy rozpuszczalnikiem organicznym jest octan etylu.

Postępując zgodnie z wynalazkiem, w wyniku działania układu enzymatycznego bakterii z rodzaju *Rhodococcus* następuje reakcja redukcji podwójnego wiązania C=C substratu, w wyniku czego otrzymuje się 4-etylo-4'-metylo- α,β -dihydrochalkon z całkowitą wydajnością izolowaną na poziomie 40% w temperaturze pokojowej, przy ciśnieniu atmosferycznym, w środowisku wodnym i w pH bliskim obojętnego. W przypadku działania układu enzymatycznego bakterii z rodzaju *Gordonia* otrzymuje się ten sam produkt z całkowitą wydajnością izolowaną bliską 38%.

Sposób wykonania objaśniony w poniższych przykładach.

P r z y k ł a d 1. Do trzech kolb płaskodennych o pojemności 2000 cm³, w których znajduje się po 300 cm³ sterylnej pożywki zawierającej 1% peptobaku, 0,2% ekstraktu drożdżowego, 0,2% hydrolizatu kazeiny, 0,6% chlorku sodu, 2% glukozy, wprowadza się szczep *Rhodococcus* sp. DSM 364. Po 48 godzinach wzrostu dodaje się do każdej kolby po 30 mg 4-etylo-4'-metylochalkonu, o wzorze 1, rozpuszczonego w 1 cm³ acetonu. Transformację prowadzi się przy ciągłym wstrząsaniu przez 24 godziny w temperaturze pokojowej. Następnie uzyskany roztwór transformacyjny ekstrahuje się trzykrotnie octanem etylu, osusza za pomocą siarczanu (VI) sodu i odparowuje rozpuszczalnik. Otrzymuje się 386,8 mg surowego produktu, który oczyszcza się na kolumnie chromatograficznej stosując jako eluent mieszaninę heksan:octan etylu w stosunku objętościowym 20:1. Na tej drodze otrzymuje się 36,6 mg 4-etylo-4'-metylo- α,β -dihydrochalkonu o wzorze 2, z wydajnością 40,3%.

P r z y k ł a d 2. Postępuje się jak w przykładzie 1, z tym, że do pożywki wprowadza się szczep *Gordonia* sp. DSM 44456. Otrzymuje się 416,3 mg surowego produktu, który oczyszcza się na kolumnie chromatograficznej stosując jako eluent mieszaninę heksan:octan etylu w stosunku objętościowym 20:1. Na tej drodze otrzymuje się 34,2 mg 4-etylo-4'-metylo- α,β -dihydrochalkonu o wzorze 2, z wydajnością 37,7%.

Dane spektroskopowe uzyskanego związku:

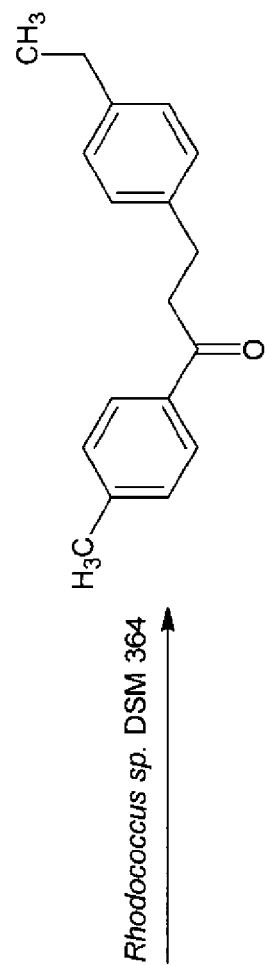
¹H NMR (600 MHz, chloroform-*d*) δ [ppm]: 7,88 (2H, d, *J* = 8,2 Hz, H-2', H-6'), 7,26 (2H, d, *J* = 8,2 Hz, H-3', H-5'), 7,19 (2H, d, *J* = 8,1 Hz, H-2, H-6), 7,15 (2H, d, *J* = 8,1 Hz, H-3, H-5), 3,30 – 3,25 (2H, m, H- α), 3,07 – 3,02 (2H, m, H- β), 2,64 (2H, q, *J* = 7,6 Hz, -CH₂CH₃), 2,42 (3H, s, -CH₃), 1,24 (3H, t, *J* = 7,6 Hz, -CH₂CH₃)

HR ESI-MS *m/z*: 253,1588 [M+H]⁺; obliczona dla C₁₈H₂₀O [M+H]⁺ 253,1587.

Zastrzeżenia patentowe

1. 4-etylo-4'-metylo- α,β -dihydrochalkon o wzorze 2 przedstawiony na rysunku.
2. Sposób otrzymywania 4-etylo-4'-metylo- α,β -dihydrochalkonu, w którym jako substrat stosuje się 4-etylo-4'-metylochalkon, **znamienny tym**, że reakcję redukcji 4-etylo-4'-metylochalkonu o wzorze 1, prowadzi się za pomocą systemu enzymatycznego szczepu bakterii z rodzaju *Rhodococcus* albo *Gordonia*, przy czym substrat dodaje się po upływie od 40 do 56 godzin a reakcję prowadzi się w temperaturze od 20 do 32°C, po czym mieszaninę transformacyjną ekstrahuje się rozpuszczalnikiem organicznym niemieszającym się z wodą, po czym ekstrakt osusza się za pomocą środka suszącego, odparowuje rozpuszczalnik i tak powstały surowy produkt, oczyszcza się na kolumnie chromatograficznej.
3. Sposób, według zastrz. 2, **znamienny tym**, że reakcję redukcji prowadzi się za pomocą szczepu *Rhodococcus* sp. DSM 364.
4. Sposób, według zastrz. 2, **znamienny tym**, że reakcję redukcji prowadzi się za pomocą szczepu *Gordonia* sp. DSM 44456.
5. Sposób, według zastrz. 2, **znamienny tym**, że substrat dodaje się po upływie 48 godzin.
6. Sposób, według zastrz. 2, **znamienny tym**, że reakcję redukcji prowadzi się wodną kulturą, przy ciągłym mieszaniu.
7. Sposób, według zastrz. 2, **znamienny tym**, że reakcję redukcji prowadzi się w temperaturze od 20 do 32°C.
8. Sposób, według zastrz. 2, **znamienny tym**, że rozpuszczalnikiem organicznym jest octan etylu.

Rysunek



WZÓR 2

WZÓR 1